FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNEE 1963

THÈSE

N° 1054

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

DIPLOME D'ETAT

PAR

Jacques DUREL
né le 23 octobre 1932 à PARIS

Présentée et soutenue publiquement le : 1963

SURVEILLANCE PERIODIQUE DE LA SENSIBILITE DES SOUCHES DE GONOCOQUES AUX ANTIBIOTIQUES

Président : M. R. FASQUELLE, Professeur.

EDITIONS A. G. E. M. P. — 8, RUE DANTE - PARIS-Ve

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNEE 1963

THÈSE

N°

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

DIPLOME D'ETAT

PAR

Jacques DUREL
né le 23 octobre 1932 à PARIS

Présentée et soutenue publiquement le :

SURVEILLANCE PERIODIQUE DE LA SENSIBILITE DES SOUCHES DE GONOCOQUES AUX ANTIBIOTIQUES

Président : M. R. FASQUELLE, Professeur.

EDITIONS A. G. E. M. P. — 8, RUE DANTE - PARIS-Ve

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

1-2-1963

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. Alajouanine (T.), Aubin (A.), Bénard (H.), Bulliard (H.), Cadenat (F.), Chabrol (E.), Debré (R.), Fey (B.), Galliard (H.), Gastinel (P.), Halphen (E.), Hazard (R.), Heuyer (G.), Lantuejoul (P.), Laroche (G.), Lavier (G.), Lévy-Solal (E.), Lian (C.), Mathieu (P.), Mocquot (P.), Monod (R.), Moreau (R.), Moulonguet (P.), Mouquin (M.), Olivier (E.), Pasteur Valléry-Radot, Petit-Dutaillis (D.), Piédelièvre (R.), Quénu (J.), Richet (C.), Senèque (J.), Strohl (A.), Tanon (L.), Verne (J.).

DOYEN . . . . . Léon BINET.
Membre de l'Institut

1er ASSESSEUR . . . . . Gaston CORDIER
2e ASSESSEUR . . . . . Paul CASTAIGNE

I. — PROFESSEURS

1° CHAIRES DE SCIENCES FONDAMENTALES

a) Professeurs titulaires :

	MM.
Anatomie	DELMAS (A.)
Anatomie pathologique	DELARUE (J.)
Anesthésiologie	BAUMANN (J.)
Biochimie médicale	JAYLE (M.-F.) SCHAPIRA (G.)
Biologie appliquée à l'Education physique et aux Sports	CHAILLEY-BERT (P.)
Biologie médicale	FAUVERT (R.)
Cancérologie médicale et sociale	BERNARD (J.)
Embryologie	TUCHMANN (H.)
Histoire de la médecine et de la chirurgie (Lariboisière)	JOANNON (P.)
Histologie	GIROUD (A.)
Hygiène et médecine préventive	BOYER (J.)
Médecine du Travail	DESOILLE (H.)
Médecine légale	DEROBERT (L.)
Microbiologie (Bactériologie et virologie)	FASQUELLE (R.)
Parasitologie	BRUMPT (L.-C.)
Pathologie chirurgicale	LAURENCE (G.)
Pathologie exotique	N...
Pathologie expérimentale et comparée	MERKLEN (F.-P.)
Pathologie médicale	N...
Pathologie respiratoire	TURIAF (J.)
Pathologie et thérapeutique générales	BOUDIN (G.)
Pharmacologie	CHEYMOL (J.)
Physiologie	BINET (L.) BARGETON (D.)
Physiologie et pathologie obstétricale	LEPAGE (F.)
Physique médicale	DOGNON (A.) DJOURNO (A.)
Radiologie médicale	DESGREZ (H.)
Technique chirurgicale et Chirurgie expérimentale	CAUCHOIX (J.)
Thérapeutique	CONTE (M.)
Thérapeutique appliquée	LAMOTTE (M.)

b) Professeurs à titre personnel :

Biochimie médicale	DESGREZ (P.) POLONOVSKI (J.)
Biologie médicale	BOURLIÈRE (F.)
Hygiène et médecine préventive	DEPARIS (M.)
Pharmacologie	LÉVY (Mlle J.)
Physiologie	PARROT (J.)
Physique médicale	KELLERSHOHN (L.)

2° CHAIRES DE SCIENCES CLINIQUES

a) Professeurs titulaires :

		MM.
Clinique carcinologique chirurgicale (Necker)		REDON (H.)
Clinique cardiologique (Broussais)		SOULIÉ (P.)
Cliniques chirurgicales	Beaujon	LORTAT-JACOB (J.-L.)
	Cochin	LEGER (L.)
	Cochin	ABOULKER (P.)
	Hôtel-Dieu	PATEL (J.)
	Pitié	CORDIER (G.)
	Saint-Antoine	GOSSET (J.)
	Salpêtrière	SICARD (A.)
	Tenon	OLIVIER (Cl.)
Clinique de chirurgie infantile et orthopédique (Enfants-Malades)		FÈVRE (M.)
Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique (Cochin)		MERLE d'AUBIGNÉ (R.)
Clinique de chirurgie cardio-vasculaire (Broussais)		GAUDART d'ALLAINES (F. de)
Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire (Laennec)		MATHEY (J.)
Clinique endocrinologique (Pitié)		DECOURT (J.)
Clinique de Génétique médicale (Enfants-Malades)		LAMY (M.)
Clinique gynécologique (Broca)		HUGUIER (J.)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques (Saint-Louis)		DEGOS (R.)
Clinique des maladies des Enfants (Enfants-Malades)		CATHALA (J.)
Clinique des maladies infectieuses (Claude-Bernard)		MOLLARET (P.)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Sainte-Anne)		DELAY (J.)
Clinique des maladies métaboliques (Necker)		HAMBURGER (J.)
Clinique des maladies du sang (Broussais)		MARCHAL (G.)
Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière)		CASTAIGNE (P.)
Cliniques médicales	Boucicaut	MILLIEZ (P.)
	Broussais	LENÈGRE (J.)
	Cochin	JUSTIN-BESANÇON (L.)
	Cochin	BROUET (G.)
	Hôtel-Dieu	BARIÉTY (M.)
	Lariboisière	SÈZE (S. de)
	Pitié	DREYFUS (G.)
	Saint-Antoine	KOURILSKY (R.)
Clinique d'hydrologie et de climatologie (Bichat)		DEBRAY (C.)
Clinique médicale propédeutique (Broussais)		GENNES (L. de)
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies de la nutrition (Hôtel-Dieu)		DEROT (M.)
Clinique de neuro-chirurgie (Pitié)		DAVID (M.)
Clinique neurologique (Salpêtrière)		GARCIN (R.)
Cliniques obstétricales	Baudelocque	LACOMME (M.)
	Foch (Suresnes)	MERGER (R.)
Clinique obstétricale et gynécologique (Port-Royal)		VARANGOT (J.)
Clinique ophtalmologique (Hôtel-Dieu)		RENARD (G.)
Clinique oto-rhino-laryngologique (Lariboisière)		AUBRY (M.)
Clinique de pédiatrie et de puériculture (Saint-Vincent-de-Paul)		LELONG (M.)
Clinique de pédiatrie sociale (Enfants-Malades)		MARIE (J.)
Clinique de pneumo-phtisiologie (Laennec)		BERNARD (E.)
Clinique de neuro-psychiatrie infantile (Salpêtrière)		MICHAUX (L.)
Clinique de rhumatologie médicale et sociale (Cochin)		COSTE (F.)
Clinique stomatologique (Pitié)		DECHAUME (M.)
Clinique thérapeutique chirurgicale (Vaugirard)		ROUX (M.)
Clinique thérapeutique médicale (Saint-Antoine)		LEMAIRE (A.)
Clinique toxicologique		GAULTIER (M.)
Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique		PADOVANI (P.)
Séméiologie médicale		DOMART (A.)
Séméiologie et clinique chirurgicales		POILLEUX (F.)
Clinique urologique (Necker)		COUVELAIRE (R.)
Hygiène et clinique de la première enfance (Trousseau)		TURPIN (R.)

b) Professeurs à titre personnel :

Médecine	BOUR (H.) LHERMITTE (F.) PEQUIGNOT (H.)

II. — PROFESSEURS SANS CHAIRE, PROFESSEURS AGRÉGÉS ET MAITRES DE CONFÉRENCES - AGRÉGÉS

	MM.
Anatomie	CABROL (C.) COUINAUD (C.) GILLOT (C.) OLIVIER (G.) pr. s. ch.
Anatomie pathologique	GAUTHIER-VILLARS (Mlle P.) pr. s. ch. ABELANET (R.) CHOMETTE (G.) GOUYGOU (Ch.), m. conf. NEZELOFF (Ch.) ORCEL (L.) PAILLAS (J.)
Anesthésiologie	KERN (E.) VOURC'H (G.)
Bactériologie	BARBIER (P.) pr. s. ch. CHRISTOL (D.) LE MINOR (L.) TOURNIER (P.)
Biochimie médicale	BAULIEU Et. m. conf. BOURILLON (R.) CARTIER (P.) DREYFUS (J.-Cl.) GONNARD (P.) KRUH (J.) JEROME (H.)
Biologie appliquée à l'Education Physique et aux Sports	PLAS (F.)
Carcinologie	BOIRON (M.) DENOIX (P.) MATHE (G.) SELIGMANN (M.)
Dermato-Syphiligraphie	CIVATTE (J.) DUPERRAT (B.)
Electro-Radiologie	LEDOUX-LEBARD (G.)
Hématologie	BESSIS (M.) BILSKI-PASQUIER (G.) DAUSSET (J.) DUHAMEL (G.)
Histologie	COUJARD (R.), pr. s. ch. MAROIS (M.) RACADOT (J.)
Hydrologie	BESANÇON (F.) CORNET (A.)
Hygiène	BOYER (J.) pr. s. ch. BLANCHER (G.) CORRE-HURST (Mme L.) SAPIN-JALOUSTRE (H.)
Maladies infectieuses	BASTIN (R.) Pr. s. ch. DUPONT (V.)
Médecine légale	FOURNIER (E.) GUENIOT (M.) HADENGUE (A.)
Médecine du travail	ALBAHARY (C.)
Neuro-chirurgie	PERTUISET (B.)
Neurologie	LAPRESLE (J.)
Obstétrique	GRANJON (A.) HERVET (E.) LE LORIER (G.) LEVY (J.) MORIN (P.) MUSSET (R.) ROBEY (M.) SENEZE (J.) SUREAU (C.) THOYER-ROZAT (J.)
Ophtalmologie	BRÉGEAT (P.) DUBOIS (A.) SARAUX (H.)

	MM.
Orthopédie	JUDET (R.) MEARY (R.) POSTEL (M.) RAMADIER (J.)
Oto-rhino-Laryngologie	DEBAIN (J.) PIALOUX (P.)
Parasitologie	GOLVAN (Y.) LAPIERRE (J.)
Pathologie chirurgicale	BARCAT (J.) BINET (J.-P.) CERBONNET (G.) CHATELIN (C.-L.) DUBOST (Ch.) DUBOST (Cl.) FAUREL (J.) FLABEAU (F.) GARBAY (M.) GARNIER (H.) (Cl. ds) GAUDART-d'ALLAINES GERMAIN (A.) LATASTE (J.) LOYGUE (J.) MERCADIER (M.) NATALI (J.) PELLERIN (D.) PERROTIN (J.) ROBERT (H.) THOMERET (G.)
Pathologie exotique	SCHNEIDER (J.)
Pathologie expérimentale	BENHAMOU (J.-P.) BERTHAUX (P.) BOIVIN (P.) CROSNIER (J.) HARTMANN (L.) LŒPER (J.) Pr. s. ch. MAURICE (J.) MIKOL (Cl.) RICHET (G.)
Pathologie médicale	AUSSANNAIRE (M.) BOUVIER (J.) BOUVRAIN (Y.) BRICAIRE (H.) BRISSAUD (H.) BROCARD (H.) BUGE (A.) CATINAT (J.) CHRÉTIEN (J.) COBLENTZ (B.) CONTAMIN (F.) COURY (C.) ÉTIENNE (J.-P.) FREZAL (J.) FRITEL (D.) HENNEQUET (A.) HIMBERT (J.) HOUSSET (E.) LAROCHE (Cl.) LESOBRE (R.) LEVEQUE (B.) MACREZ (C.) MOREAU (L.) NICK (J.) ROYER (P.) TOURNEUR (R.) WOLFROMM (R.)
Pédiatrie-Puériculture	LAFOURCADE (J.) LEPERCQ (G.) MANDE (R.) MOZZICONACCI (P.) POLONOVSKI (C.) ROSSIER (A.) VIALATTE (J.)

	MM.
Pharmacologie	BOISSIER (J.) LECHAT (P.)
Physiologie	BARRES (G.) DEJOURS (P.) pr. s. ch. DURAND (J.) GIRARD m. conf. HUGELIN (A.) SCHERRER (J.)
Physique médicale	CHANTEUR (J.) GOUGEROT (L.), m. conf. pr. s. ch. GREMY (F.) m. conf. MILHAUD (G.) PELLERIN (P.) ROUCAYROL (J.-Cl) TUBIANA (M.) m. conf.
Pneumo phtisiologie	KREIS (B.) MEYER (A.) RENAULT (P.)

	MM.
Psychiatrie	PICHOT (P.)
Psychiatrie infantile	DENIKER (P.) DUCHE (D.) FLAVIGNY (H.)
Rhumatologie	DELBARRE (F.) pr. s. ch.
Stomatologie	CERNEA (P.) CHAPUT (Mme A.) m. c. agr. GRELLET (M.)
Thérapeutique	CHASSAGNE (P.) MARCHE (J.)
Urologie	AUVERT (J.) MOULONGUET (A.) QUENU (L.)

III. — PROFESSEURS SANS CHAIRE ET AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

à titre permanent.

	MM.
Anatomie	DEBEYRE (J.)
Clinique chirurgicale	VERNE (J.-M.)
Clinique médicale	PERRAULT (M.) RAMBERT (P.) THIEFFRY (S.)
Clinique obstétricale	GRASSET (J.) MAYER (M.)

	MM.
Clinique ophtalmologique	DESVIGNES (P.) OFFRET (G.)
Clinique pédiatrique et puériculture	LAPLANE (R.)
Clinique psychiatrique	BARUK (H.)
Clinique urologique	KUSS (R.)

IV. — PROFESSEURS DÉTACHÉS DANS LES UNIVERSITÉS ÉTRANGÈRES

Bactériologie . . . . . HAUDUROY (P.) Pr. s. ch.

Pathologie chirurgicale . . . . . RUDLER (J.) Pr. s. ch.

V. - CHARGÉS DE COURS D'HYGIÈNE SCOLAIRE ET UNIVERSITAIRE . . . BOLTANSKI (E.), LAUNAY (C.)

Secrétaire général de la Faculté . . . . . M. LENA (J.)

Secrétaire principal . . . . . Mlle CHAINTREUIL (G.)

Conservateur en Chef de la Bibliothèque . . . Conservateur du Musée d'Histoire de la Médecine . . . . . M. le Docteur HAHN (A.)

Conservateurs . . . . . Mlles DUMAITRE (P.), LE NOIR (G.), QUIÉVREUX (E.)

Bibliothécaire . . . . . Mmes CONTET (J.), FORGET (F.), Mlle LAURENT (H.)

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

Aux Miens et à mes Amis.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550201_0047

A Monsieur le Professeur Robert FASQUELLE

Professeur de Bactériologie à la Faculté
de Médecine de Paris

En témoignage de la reconnaissance de
l'honneur qu'il m'a fait en acceptant
la présidence de cette thèse.

Qu'il veuille bien trouver ici l'assu-
rance de notre respectueuse gratitude.

A Madame Le Docteur Vera ROIRON

Qui nous a inspiré ce travail, nous en a fourni les éléments et nous a guidé dans sa réalisation.

Qu'elle veuille bien trouver ici l'assurance de ma vive et respectueuse affection.

P L A N

-:- INTRODUCTION -:-

I - IDENTIFICATION du GONOCOQUE -

1) - Examen d'une secrétion par coloration -

2) - Isolement par culture -
Caractères biologiques du germe.

3) - Milieux de transport -

4) - Conservation des souches -

a - dans les milieux de transport
b - dans les milieux particuliers
c - par lyophilisation.

II - DETERMINATION de la SENSIBILITE du GONOCOQUE aux ANTIBIOTIQUES -

1) Techniques:

a - sur ensemencement direct du prélèvement

b - sur souches isolées et identifiées

c - Méthode des disques

d - Méthode des dilutions

e - Association d'antibiotiques.

2) Résultats -

III - EVOLUTION de la RESISTANCE aux DIVERS ANTIBIOTIQUES -

1) - Aspect du problème dans les pays anglo-saxons

- Méthodes

- Résultats

2) - Aspect du problème en France

- Méthodes

- Résultats

IV - DEFINITION des CRITERES d'EXPRESSION des RESULTATS -

Intérêt de la comparaison

V - HYPOTHESES sur les FACTEURS CONDITIONNANT l'APPARITION de la RESISTANCE aux AGENTS THERAPEUTIQUES et sa VARIATION -

VI - C O N C L U S I O N -

. . . .

=:=:=:=:=:=:=:=:=

- INTRODUCTION -

La leçon de la sulfamido-résistance a posé un problème thérapeutique important pour une affection que l'on espérait comme ne devant plus donner de soucis aux médecins et ce phénomène s'étant reproduit avec netteté vis-à-vis des antobiotiques, il est devenu nécessaire d'observer la sensibilité du germe aux différents agents thérapeutiques afin de prévoir et d'adapter le traitement.

C'est le grand intérêt des études conduites par le Docteur Véra ROIRON en France et par le Docteur Alice REYN au Danemark et soutenues par l'Organisation Mondiale de la Santé.

La France a constitué un cas particulier car par crainte de masquer la syphilis par l'emploi de la pénicilline, on a surtout utilisé la streptomycine et l'on sait que cet entibiotique a sélectionné des souches résistantes de germes autres que le gonocoque.

Le mieux serait de choisir pour le traitement de la gonococcie tel ou tel antibiotique et ce universellement, puis d'en changer tous les deux ans ; ce qui n'est pas possible.

Par conséquent les études comparatives de la sensibilité périodique du germe présentent l'intérêt de pouvoir utiliser dans l'arsenal thérapeutique dont disposent les médecins, et que les études pharmacologiques étendent au cours des années de recherches le traitement qui s'avère le plus efficace dans le moment.

=:=:=:=:=:=:=:=:=:=:=:=

- IDENTIFICATION du GONOCOQUE -

Afin d'établir le diagnostic et ultérieurement suivre l'efficacité du traitement, il est indispensable de reconnaitre avec certitude la présence du gonocoque, de le caractériser et de le distinguer des autres Neisseria saprophytes.

La toute première méthode de laboratoire qui apporte un élément de présomption en raison des groupements typiques du germe, mais non de certitude et qui est le premier geste accompli est l'examen direct par coloration.

I°) - EXAMEN d'une SECRETION par COLORATION -

C'est la plus simple technique mais dont ne doit en aucun cas se contenter le médecin car c'est la plus entachée d'erreur ; elle ne peut apporter que des renseignements d'ordre morphologiques communs à d'autres germes.

Le prélèvement d'une sécrétion suspecte devrait se faire de préférence avant toute miction, à l'aide d'une spatule ou d'une anse de platine, l'une comme l'autre stérile.

L'on doit s'efforcer d'obtenir un étalement mince sur une lame bien dégraissée, qui ensuite sera fixée par recouvrement de quelques gouttes d'alcool suivi d'un flambage, technique qui modifie le moins la morphologie du prélèvement. L'on peut aussi fixer à la chaleur dans la flamme d'une veilleuse de bec Bunsen ou enfin par immersion dans du méthanol pendant moins de deux minutes. Afin de parer à tout incident, il est utile de faire au moins deux étalements.

La technique de coloration est simple et il est préférable d'utiliser directement la coloration de Gram, celle par le bleu de méthylène ne pouvant apporter assez d'éléments au diagnostic de gonococcie et l'on risque alors de s'exposer à des incidents en colorant cette même lame par le Gram.

De plus, comme ce temps de l'établissement du diagnostic n'est qu'une étape d'orientation, il n'est pas recommandable de faire subir aux prélèvements des traitements qui n'apportent rien de plus aux éléments de certitude.

La technique de Gram, modifiée par MEYRICK et HARRISSON (1942), a été décrite en détail par WILKINSON (1962) :

A) - 10 % solution alcoolique de cristal violet ..... 1 partie
1 % solution aqueuse d'oxalate d'ammonium ..... 4 "

Recouvrir la lame de ce mélange pendant 1 minute, puis rincer à l'eau distillée.

B) - Ensuite, recouvrir la lame de la solution suivante :

Iode ..... 1 g.
Iodure de potassium ..... 2 g.
Eau distillée ..... 100 ml.

Et laisser agir également pendant 1 minute.

C) - Rincer à l'eau distillée pour différencier par l'alcool-acétone pendant quelques secondes. Arrêter la décoloration en lavant à l'eau distillée, puis :

D) - Recolorer pendant 1 minute avec quelques gouttes de la solution suivante :

Solution de rouge neutre à 1 % ..... 15 parties
Solution aqueuse de phénol à 5 % .....
Solution alcoolique de fuchsine boriquée à 10 % ...

E) - Jeter, rincer à l'eau distillée puis sécher sur papier-filtre.

Cette coloration ne permet pas de différencier avec certitude N. Gonorrhoeae des autres germes (Staphylocoques, E. Coli, autres Neisseria).

Cependant, chez l'homme il est classique d'observer des diplocoques Gram négatif intra-cellulaires. A l'état libre, ces amas sont composés de gonocoques

toujours nettement isolés les uns des autres par leur capsule et groupés en tétrade ou bien en amas composés d'un nombre multiple de quatre, mais présentant toujours un aspect aéré qui a été fort bien comparé par M. BARBELLION au frai de grenouille. Chez la femme, surtout lorsque la phase aiguë est dépassée, il est pratiquement impossible de reconnaître le gonocoque des autres germes saprophytes ; c'est dire l'intérêt de l'isolement du gonocoque par culture.

2°) - ISOLEMENT par CULTURES -

Cette technique, qui permet d'étudier les propriétés biologiques des germes en cause, est la seule qui puisse apporter des éléments de certitude et, bien sûr, d'étudier la sensibilité aux différents agents thérapeutiques. Mais elle pose le problème du transport du germe qui, du fait de l'importance qu'il prend lorsque l'on ne dispose pas d'un laboratoire, sera étudié dans un chapitre particulier.

Le milieu de culture qui a été utilisé est le milieu ROIRON (1954) :

A) - Ajouter à 100 gr. de viande de boeuf dégraissée et hachée, 500 ml. d'eau. Alcaliniser par 15 ml. de Na OH N et chauffer 5 minutes à 75 - 80°.

- Après refroidissement à 40°, ajouter 0,2 g. de poudre de trypsine et laisser en contact 6 heures à + 37° centigrades.

- Arrêter ensuite la digestion par 0,7 ml. d'acide acétique et 10 minutes d'ébullition. - Laisser 1 nuit à + 4° centigrades, puis filtrer sur gaze et sur papier.

B) - D'un autre côté, dissoudre 12,5 g. de gélose dans 500 ml. d'eau contenant 1 % de Na Cl.

C) - Mélanger à parties égales A et B ; ajouter 1 gr. de glucose et 5 gr. de PO_4Na_2H cristallisé. Ajuster à pH 7,4.

Reporter en ballon et stériliser à l'autoclave.

Au moment de l'emploi, fluidifier au bain-marie, laisser refroidir à 50 - 60° centigrades et ajouter 20% de plasma de cheval avant de

répartir en boites de Pétri.

D'autres laboratoires utilisent des milieux différents, enrichis avec du sang de diverses origines (cheval, boeuf ...), de l'hémoglobine ou liquide d'ascite. Le milieu ROIRON présente l'avantage d'être parfaitement clair et de permettre une étude facile des propriétés bio-chimiques de N. gonorrhoeae.

A) - ENSEMENCEMENT des BOITES de PETRI -

Les prélèvements sont faits à l'aide d'écouvillons stériles, placés dans le milieu de transport à partir duquel sont faits les ensemencements à la surface du milieu, puis les boites sont placées à l'étuve à 36° cent. en atmosphère enrichie en CO_2 par une bougie placée dans une boite de TENOT qui contient également un petit Becher rempli d'eau.

Au bout de 24 heures, les colonies typiquement rondes, de 0,5 à 1 mm. de diamètre, convexes, grises et luisantes, à bords lisses, sont contrôlées par un examen microscopique et la réaction d'oxydation. D'autres repiquées au besoin plusieurs fois consécutives afin d'obtenir une culture parfaitement pure permettant l'étude des fermentations.

La réaction d'oxydation ne peut apporter à elle seule un élement formel car d'autres germes, en particulier Haemophilus, Alkaligenes et d'autres Neisseria, peuvent prêter à confusion si l'on se borne à l'examen morphologique et à la positivité de la réaction d'oxydation. Cette réaction est obtenue en préparant extemporanément une solution contenant 1 % de chlorydrate de diméthyl-p-phénylène diamine pulvérisé, ou plus simplement laissé tomber à raison d'une goutte sur quelques colonies qui virent au rouge grenat en quelques secondes.

B) - ETUDE des FERMENTATIONS -

Elle est nécessaire surtout chez la femme où, pour suivre l'efficacité d'un traitement, affirmer ou infirmer l'existence d'une résistance, il est indispensable de faire la distinction entre les nombreux saprophytes du tractus génital et N. gonorrhoae. On aura donc un diagnostic certain que si ces différentes conditions sont réunies.

1) - Aspect typique des colonies macro et microscopiques.
2) - Réaction d'oxydation positive .
3) - Fermentation du Glucose seule positive.

	MALTOSE	GLUCOSE	LACTOSE	HANNITOL	LEVULOSE	SUCROSE
N. gonorrhoeae	-	+	-	-	-	-
N. meningitidis	+	+	-	-	-	-
N. catarrhalis	-	-	-	-	-	-
N. flavescens	-	-	-	-	-	-
N. flava I - II - III	+	+	-	±	±	±
N. Sicca	+	+	-	-	+	+

Les deux plus importants

Le milieu utilisé pour l'étude des fermentations ne diffère du milieu de culture que par le remplacement (au dernier stade qui précède l'emploi) du plasma de cheval par le même pourcentage de liquide d'ascite. Les fermentations ne se produisent pas en présence de plasma de cheval et l'enrichissement par l'hémoglobine qui colore le milieu ne permet pas une lecture facile.

SCHEMA D'ETUDE D'UNE SECRETION SUSPECTE

(R.H. SVIHUS et coll. 1961)

Aspect clinique	Sécrétion purulente épaisse	Sécrétion fluide légère
Aspect de l'étalement	Diplocoques Gram négatifs intra et extra cellulaires	Cocci Gram positifs et germes polymorphes
Formes des colonies	Formes de croissance variées / Petites colonies grises et luisantes	Formes de croissance variées
Types de germes	E. Coli	N. gonorrheae N. flava N. catarrhalis N. sicca	Staphylocoques Streptocoques Diphétoïdes

3°) - IDENTIFICATION de N. GONORRHOEAE par la TECHNIQUE des ANTICORPS FLUORESCENTS -

Cette technique mise au point par DEACON (1961), est théoriquement séduisante et mérite d'être appronfondie avec soin bien qu'elle n'ait pas donné jusqu'à maintenant des résultats parfaitement convaincants et n'ait pas montré les remarquables qualités de spécificité indiscutable, de sensibilité et de reproductibilité observées lorsque cette technique est appliquée au diagnostic de la syphilis.

La réaction d'immuno-fluorescence (I.F.) permet de révèler un antigène - en l'occurence le gonocoque - qui forme ; lorsqu'il est mis en présence de son anticorps conjugué avec un fluorochrome, un complexe immunologique qui émet un rayonnement visible lorsqu'il est soumis à la lumière ultra-violette. Le colorant utilisé est l'isothiocyanate de fluoresceine, conjugué avec un sérum antigonococcique, en raison de son emploi et de sa diffusion dans le monde, mais rien ne permet de conclure pour le moment qu'il soit le meilleur.

On pratique habituellement la mathode directe sur des cultures de 16 heures dont on prélève des éléments que l'on étale sur lame et que l'on fixe avec des techniques variables qui visent à ne pas détruire l'antigène.

La pratique de la réaction sur un étalement à partir d'un prélèvement urétral présentent de grandes difficultés car les leucocytes absorbent les globulines conjuguées au fluorochrome.

Cependant l'intérêt de cette technique d'identification est important car si l'on peut éliminer les autres anticorps - en particulier staphylococciques (Inge LIND, 1962) - on pourrait disposer d'une technique simple, rapide et qui éliminerait la partie fastidieuse et dispendieuse en matériel de la technique classique. C'est pour cette raison que l'on doit s'attacher à mettre au point cette réaction (N. M. OVTCHINNIKOV, C. C. LOURIE et V. N. BEDVONA Moscou 1961).

=:=:=:=:=:=:=:=:=:=:=:=

4°) - MILIEUX de TRANSPORT pour le GONOCOQUE -

L'accroissement des affections gonococciques et l'importance de la mesure de la résistance de ce germe donne un grand intérêt à ces milieux qui permettent de pratiquer en laboratoire des tests de sensibilité, d'isoler, puis de conserver des souches résistantes à divers agents thérapeutiques quand on ne peut disposer immédiatement d'un laboratoire.

De plus, bien des praticiens ne sont pas des biologistes et le milieu de transport est la seule façon de pouvoir faire étudier les propriétés d'un germe par un spécialiste.

De très nombreux travaux ont été effectués sur ce sujet, car le milieu doit répondre à plusieurs exigences :

- Maintenir le gonocoque en état de vie active,
- Eviter la dessication du prélèvement,
- Eviter la croissance de germes parasites.

Le milieu de STUART, décrit par MOFFET, YOUNG et STUART (1948) semble actuellement être le meilleur. Il préserve mieux le gonocoque et présente moins de contamination, indépendamment de l'origine du matériel et du temps de transport.

Il répond à la formule suivante :

	Eau distillée	190 ml.
	Acide thioglycollique	0,2 ml.
en solution aqueuse	Glycérophosphate de Na à 20%	10 ml.
	Chlorure de Calcium à 1 % .	2 ml.
	Agar	0,6 ml.

Dissoudre chacun des composants et ajuster à pH 7,2 avec Na OH N/1. Ajouter 0,4 ml. d'une solution aqueuse de bleu de méthylène à 0,1 % et répartir en petits flacons. Stériliser à l'autoclave.

On utilise ce milieu en y plongeant un bâtonnet recouvert à son extrémité de coton préalablement immergé dans un tampon phosphate pH 7,4 porté à ébullition, séché au four, plongé dans une solution contenant 1 % de charbon de bois.

Le prélèvement est effectué grâce à ce coton monté, mis dans le milieu de transport, qui doit être porté au laboratoire au plus tard 48 heures après

avoir été accompli et, de toute façon, stoké de préférence à + 4° centigrades.

L'adjonction de sulfate de polymyxine B au milieu inhibe le développement d'E. - coli sans influencer celle de N. gonorrhoeae (A. REYN, Bent KORNER et Michaël WEISBENTSON, 1960).

5°) - CONSERVATION DU PRELEVEMENT -

A) - Conservation dans les milieux de transport.

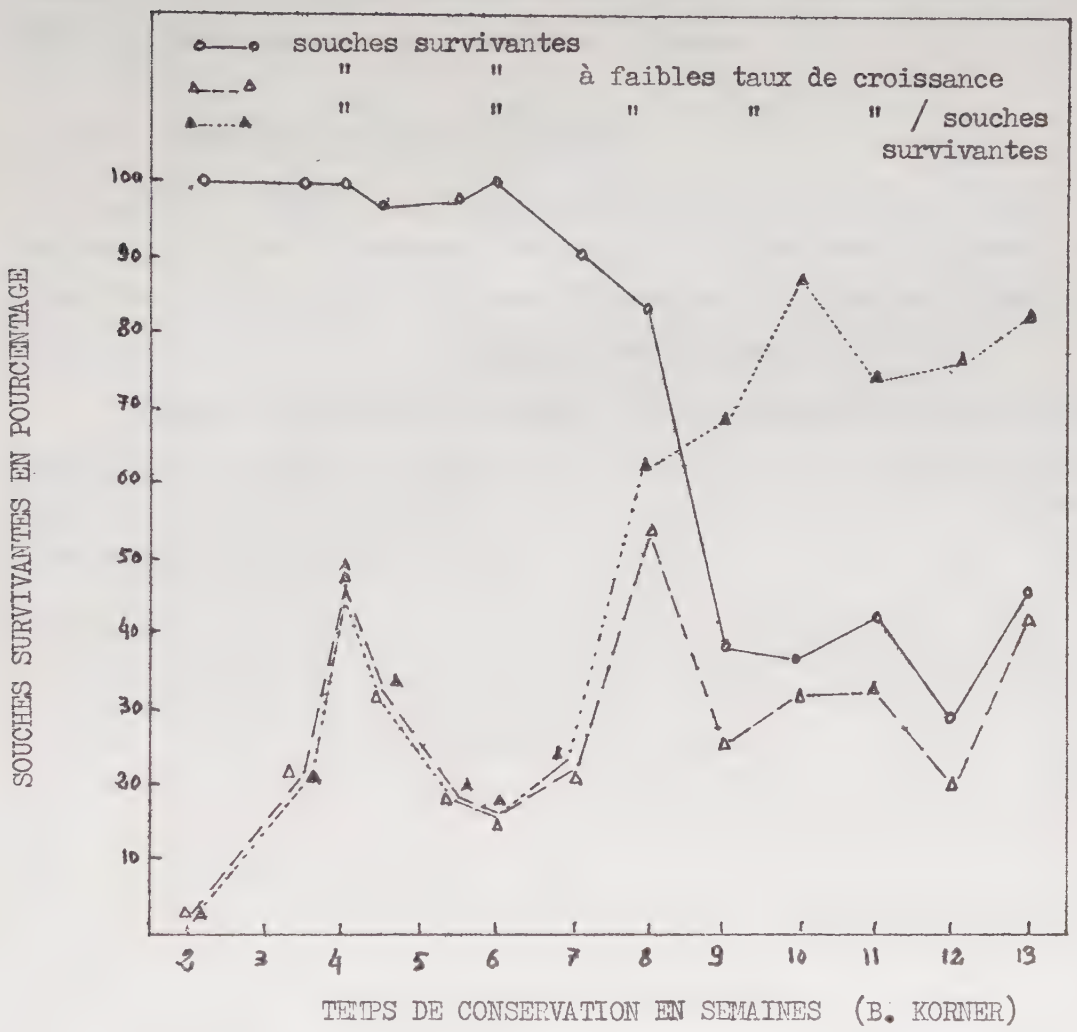
Elle a fait l'objet d'études surtout conduites au Danemark sur le milieu de Stuard modifié de manière à le rendre solide, c'est-à-dire en ajoutant 1,5 % d'Agard au lieu de 0,3 %.

Divers paramètres ont motivé les expérimentations (température, importance de l'inoculum) qui ont montré que la conservation à + 4° centigrades de tampons très largement inoculés par raclage de la surface d'une culture en boîte de Petri pourrait être maintenue au moins pendant 6 semaines.

Il pourrait être possible de conserver les souches pendant de très longues périodes, en les repiquant toutes les 6 semaines et en les replaçant dans le milieu de Stuart modifié.

TAUX DE SURVIE DE CULTURES GONOCOCCIQUES PURES CONSERVEES DANS LE MILIEU SOLIDE DE STUART A 4° C

Chaque point du diagramme représente de 50 à 150 observations de tubes fortement inoculés.



6°) - CONSERVATION DES SOUCHES PURES -

B) - Dans les milieux particuliers.

On peut conserver les souches pures par l'emploi du bouillon nutritif suivant (Wilkinson A.E. 1962) :

Gélose	0,15 %
Liquide d'hydrocèle	5,00
Chlorure de potassium	0,02
Chlorure de calcium	0,01

Dissoudre les composants dans le bouillon, ajuster à pH 7,4 laisser refroidir à 50° ; ajouter le liquide d'hydrocèle et répartir à raison de 10 ml. par tube.

Le milieu est ensemencé avec une culture de 18 heures au plus et placé à + 36° cent. - Les repiquages doivent être faits à des intervalles de 3 semaines, bien que quelques ensemencements aient pu être maintenus en vie dans ce milieu pendant quelques mois, stockés à l'étuve.

C) - Conservation par lyophilisation.

Cette technique est la plus satisfaisante, tout compte fait, la moins onéreuse et la seule permettant l'échange et l'expédition de souches entre les divers laboratoires en en minimisant les pertes, les risques de destruction et en allongeant d'une durée indéfinie le maintien en vie latente.

Le mode opératoire est variable à des détails près selon l'appareil de lyophilisation employé, cependant il est nécessaire que la dessication soit complète et faite sur un prélèvement en couche mince. On compte généralement 1 heure par millimètre d'épaisseur plus une heure pour parfaire la dessication.

=:=:=:=:=:=:=:=:=:=:=:=

- DETERMINATION de la SENSIBILITE du GONOCOQUE aux ANTIBIOTIQUES -

C'est un sujet d'étude qui prend une importance de plus en plus grande étant donné le nombre des souches de gonocoques dont la sensibilité aux antibiotiques décroît, ainsi que la diversité des thérapeutiques et celle des opinions qui les motivent.

Là encore, la conservation des gonocoques est capitale, d'autant plus qu'en dehors de la détermination de la sensibilité il devient à l'ordre du jour de confronter les résultats obtenus dans les différents laboratoires avec des techniques diverses et d'établir un système commun de référence.

TECHNIQUES -

1°) - Méthode des disques - Antibiogramme.

Cette méthode est la plus simple ; faciles à mettre en oeuvre la manipulation et le stockage des disques imprégnés ne posent aucun problème puisqu'ils se trouvent conditionnés dans le commerce. Leur emploi peut se faire :

a - Soit sur l'ensemble des sécrétions urétrales, ce qui permet d'économiser les temps nécessaires à l'isolement puis à l'identification du germe mais, en contrepartie, laisse un doute sur ce dernier puisque tout le groupe des Neisseria donne une réaction d'oxydation positive. (V. ROIRON 1961).

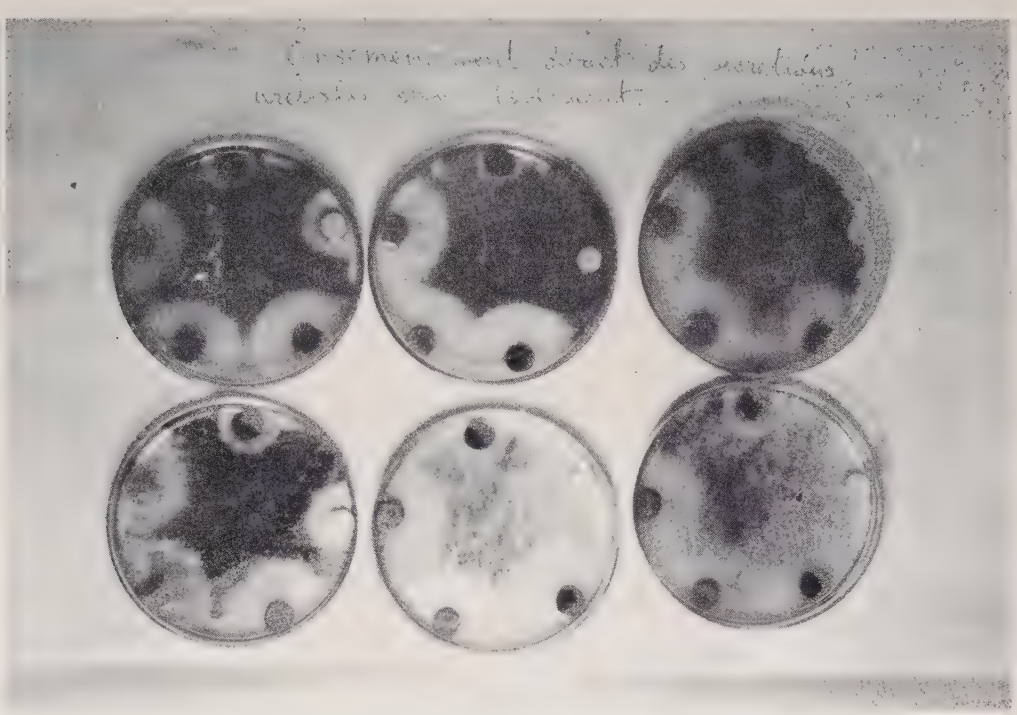
b - Soit sur la souche préalablement isolée d'un pus urétral.

Mais dans l'un comme dans l'autre cas, cette méthode ne permet qu'une détermination globale et non une mesure quantitative de la sensibilité du germe, à l'inverse de la méthode des dilutions.

Le milieu utilisé est toujours le milieu ROIRON et les examens comparatifs faits par cet auteur (1961) ont permis les résultats suivants, parfaitement

probants (voir tableau p. 19).

Antibiogramme sur ensemencement direct des sécrétions urétrales sans isolement préalable du gonocoque.



(V. ROIRON, G. RASETTI-NICOD et P. DUREL 1961).

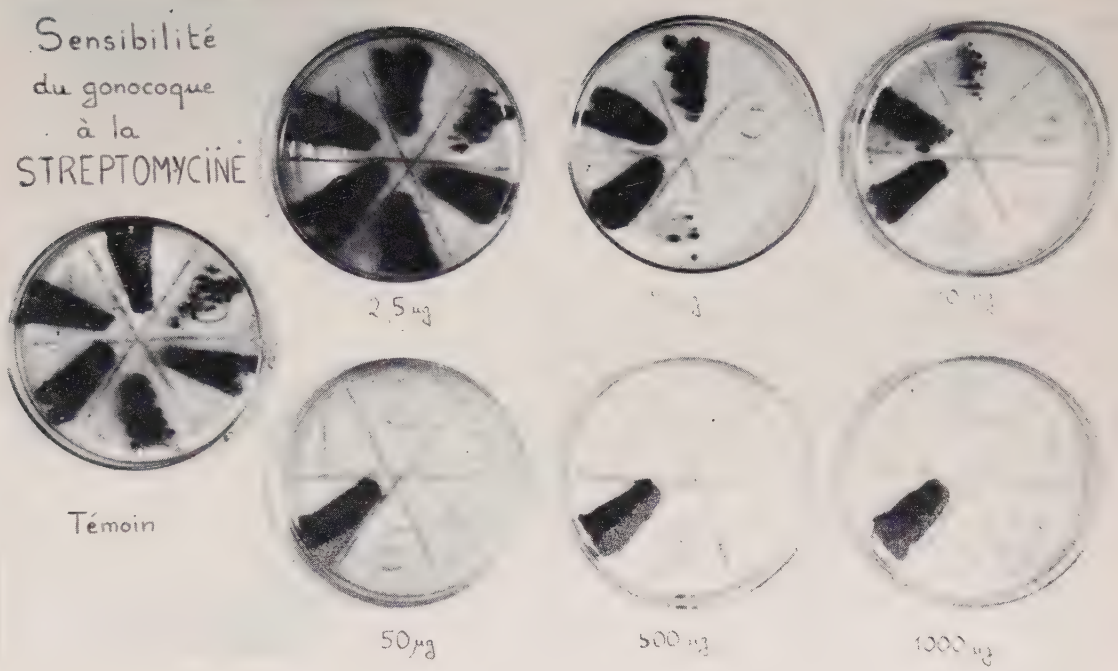
Disques utilisés : 1 = Pénicilline ; 2 = Streptomycine ; 3 = Spiramycine
4 = Tétracycline ; 5 = Oxytétracycline.

Six couches de gonocoques : N° 1 = résistante à la Streptomycine, sensible aux autres antibiotiques ; N° II - IV - V et VI, bonne sensibilité à tous les antobiotiques essayés ; n° III, absence de gonocoques.

Comme on le voit, grâce à la réaction d'oxydation, la présence de colonies d'autres germes que les Neisseria ne gène pas la lecture et l'appréciation de la sensibilité.

Sensibilité de six couches de Gonocoques à la Streptomycine.

(Méthode des dilutions).



(V. ROIRON, G. RASETTI-NICOD et P. DUREL 1961)

6 souches différentes sont ensemencées à la surface de chaque boîte de Petri contenant différent taux de Streptomycine ; la boîte témoin n'en contient pas. La réaction d'oxydation a noirci la pousse microbienne.

Les souches 3 et 4 ont été inhibées par 5 mcg./ml. de Streptomycine la souche 5 a donné quelques colonies à cette concentration mais a été inhibée par 10 mcg./ml. Les souches 1 et 2 n'ont été inhibées que par 50 mcg./ml. et la souche 6 a résisté au taux de 1.000 mcg./ml. de Streptomycine.

La suspension de germes en sérum physiologique doit être assez riche ; environ 25×10^6 par millimètre-cube.

2°) - Méthode des dilutions - a) sur boîte de Pétri.

Cette technique est la plus fidèle, mais aussi plus délicate, plus onéreuse ; elle a l'avantage de donner des résultats qui peuvent être comparés d'un laboratoire à un autre, à condition que chaque paramètre et que chaque étape du protocole opératoire soit respectés, ce qui est d'ailleurs fort simple, les exigences de cette méthode étant faibles.

Les antibiotiques sont incorporés au milieu de culture fluidifié refroidi à 55° et coulé en boîte de Pétri aux dilutions-types suivantes pour quelques antibiotiques très courants :

Pénicilline G.	Streptomycine	Spiramycine	Tétracycline
0,025 U (0,015 µg) /ml.	2,5 µg/ml.	0,12 µg/ml.	0,12 µg/ml.
0,050 U (0,030 µg) /ml.	5 µg/ml.	0,25 µg/ml.	0,25 µg/ml.
0,100 U (0,060 µg) /ml.	10 µg/ml.	0,50 µg/ml.	0,50 µg/ml.
0,250 U (0,150 µg) /ml.	50 µg/ml.	1 µg/ml.	
0,500 U (0,300 µg) /ml.	500 µg/ml.		
1 U (0,600 µg) /ml.	1000 µg/ml.		

puis chaque boîte de Pétri est divisée en 4 ou 6 secteurs en traçant des traits sur sa face inférieure ; chacun d'eux est numéroté et, dans chaque série, une boîte ne contenant pas d'antibiotique sert de témoin.

L'ensemencement se fait à partir d'une suspension de germes en sérum physiologique et chaque souche à tester est ensemencée à l'öse sur le cadran correspondant.

- Sensibilités répétées -

Méthode des dilutions et méthode des disques

PENICILLINE			
Nos	Dates des essais	Dilutions	Disques
23918	3.11	1) R. 0,025 u S. 0,05 u	30 mm
	17.11	2) R. 0,025 u S. 0,05 u	30 "
17801	3.11	1) R. 0,025 u S. 0,05 u	28 mm
	1.12	2) R. 0,025 u S. 0,05 u	29 "
27683	14.3	1) R. 0,025 u S. 0,05 u	33 mm
	22.3	2) R. 0,025 u S. 0,05 u	34 "
	30.3	3) S. 0,025 u	38 "
24144	14.3	1) S. 0,025 u	36 mm
	31.3	2) S. 0,025 u	37 "
27263	14.3	1) R. 0,025 u S. 0,05 u	33 mm
	17.3	2) R. 0,025 u S. 0,05 u	34 "
	22.3	3) R. 0,025 u S. 0,05 u	34 "
	31.3	4) S. 0,025 u	33 "
27255	14.3	1) S. 0,025 u	43 mm
	22.3	2) S. 0,025 u	47 "

STREPTOMYCINE			
Nos	Dates des essais	Dilutions	Disques
23918	3.11	1) R. 1000 γ	0 mm
	17.11	2) R. 1000 γ	0 "
17801	3.11	1) R. 1000 γ	0 mm
	1.12	2) R. 1000 γ	0 "
26391	1.12.59	1) R. 2 γ 5 S. 5 γ	25 mm
	2.2.60	2) R. 2 γ 5 S. 5 γ	26 "
27356	23.2	1) R. 2 γ 5 S. 5 γ	27,5 mm
	1.3	2) R. 5 γ S. 10 γ	26 "
27056	26.1	1) R. 5 γ S. 10 γ	21,5 mm
	2.2	2) R. 5 γ S. 10 γ	25 "
13223	26.1	1) R. 5 γ S. 10 γ	24 mm
	2.2	2) R. 5 γ S. 10 γ	28 "
26372	26.1	1) R. 5 γ S. 10 γ	25 mm
	2.2	2) R. 5 γ S. 10 γ	23 "
12 987	26.1	1) R. 5 γ S. 10 γ	21 mm
	2.2	2) R. 5 γ S. 10 γ	26 "

R. = Résistante S. = Sensible

(V. ROIRON, G. RASETTI-NICOD et P. DUREL 1961)

- Sensibilité de souches de gonocoques recherchée parallèlement sur les souches isolées préalablement et sur les sécrétion urétrales totales -

	Méthode des dilutions	Méthode des disques après isolement (médianes)	Méthode des disques sur sécrétions totales (médianes)
PENICILLINE	66 souches sensibles à 0,025 u.	37 mm	41 mm
	19 souches sensibles à 0,050 u.	32,5 mm	36 mm
	17 souches sensibles à 0,100 u.	29 mm	35 mm
STREPTOMYCINE	5 souches sensibles à 2,5 mcg.	23 mm	32,5 mm
	21 souches sensibles à 5 mcg.	27,5 mm	28,5 mm
	52 souches sensibles à 10 mcg.	25 mm	30 mm
	3 souches sensibles à 50 mcg.	24 mm	30 mm
	28 souches résistantes à 1000 mcg.	0 mm	0 mm
SULFATHIAZOL	31 souches sensibles à 2,5 mcg.	32 mm	34 mm
	54 souches sensibles à 10 mcg.	26 mm	29 mm
	25 souches sensibles à 50 mcg.	19 mm	23,5 mm
	2 souches sensibles à 100 mcg.	12,5 mm	0 mm.

(V. ROIRON, G. RASETTI-NICOD et P. DUREL 1961)

Les épreuves de sensibilité par la méthode des disques et par la méthode des dilutions faites par Madame V. ROIRON et ses collaborateurs (1961) sur 212 souches à l'encontre de la pénicilline et de la streptomycine ont montré une très bonne concordance, mais il est bien évident que seule la méthode des dilutions doit être employée pour mesurer l'évolution de la résistance des nouvelles souches isolées car les disques sont imprégnés d'une quantité d'antibiotique considérable et la mesure métrique des zones d'inhibition ne peut, malgré tout, ne donner qu'un reflet de la sensibilité du germe vis-à-vis de la dose de produit thérapeutique.

De plus, si l'on veut comparer les résultats des laboratoires différents, il est plus rigoureux de s'en tenir à une méthode parfaitement définie plutôt qu'à l'emploi de disque dont la teneur en antibiotique peut varier d'un pays à l'autre et, de ce fait, rendre les résultats comparatifs sans aucune valeur.

3°) - Méthode de dilution - b) en tubes. (Milieu liquide).

Cette méthode est utilisée surtout en Grande-Bretagne (Wilkinson, 1962) avec le milieu suivant :

Liquide d'hydrocèle	12,5 ml.
Bouillon nutritif	87,5 ml.
Glucose	1 g.
Rouge de phénol	la dose nécessaire pour donner une faible coloration.

Le pH est ajusté à 7,4 et le milieu est stérilisé par filtration sur Seitz et réparti à raison de 25 ml. dans des flacons stériles fermés à vis.
- Après contrôle de stérilité, le milieu est stocké à + 4° centigrades.

Une série de dilutions décroissantes de pénicilline de 1 à 0,008 U/ml, sont préparées dans le milieu ; pour la streptomycine, on établit des dilutions de 1.000 à 1 μg/ml.

Au total, 0,5 ml. de milieu contenant l'antibiotique sont répartis dans des tubes à hémolyse, en réservant 1 tube témoin ne contenant pas d'antibiotique.

Puis, 0,02 ml. d'une suspension de germes sont répartis dans chaque tube et la lecture se fait après séjour de 48 heures à + 36° centigrades, en notant la dilution où la culture est complètement inhibée.

4°) - Etude des associations d'antibiotiques.

Cette méthode (CHABBERT et J.C. PATTE, 1959) permet de juger l'action bactéricide des associations d'antibiotiques.

Pour ce faire, on place sur la face d'une boîte de Pétri dans laquelle est coulée le milieu, 2 bandes de papier buvard de 70 x 5 m/m imprégnées chacune d'une solution déterminée d'un antibiotique et séchées à l'étuve, ces deux bandelettes formant entre elles un angle de 90°. Puis on laisse diffuser le produit pendant 24 heures à 37° centigrades.

Par ailleurs, sur un cylindre de verre d'un diamètre plus petit que celui de la boîte de Pétri et d'une hauteur de 30 m/m, on tend une feuille de cellophane maintenue par une bande élastique sur la paroi externe du cylindre. L'ensemble est placé dans une boîte en verre, stérilisée à l'autoclave.

Au moment de l'emploi, on place le disque de cellophane sur le milieu après avoir préalablement enlevé les bandes imprégnées d'antibiotique et c'est la surface de la cellophane que l'on ensemence.

Puis, après 24 heures de contact à l'étuve, on transfère le disque de cellophane sur une boîte contenant un milieu sans antibiotique.

=:=:=:=:=:=:=:=:=:=:=:=

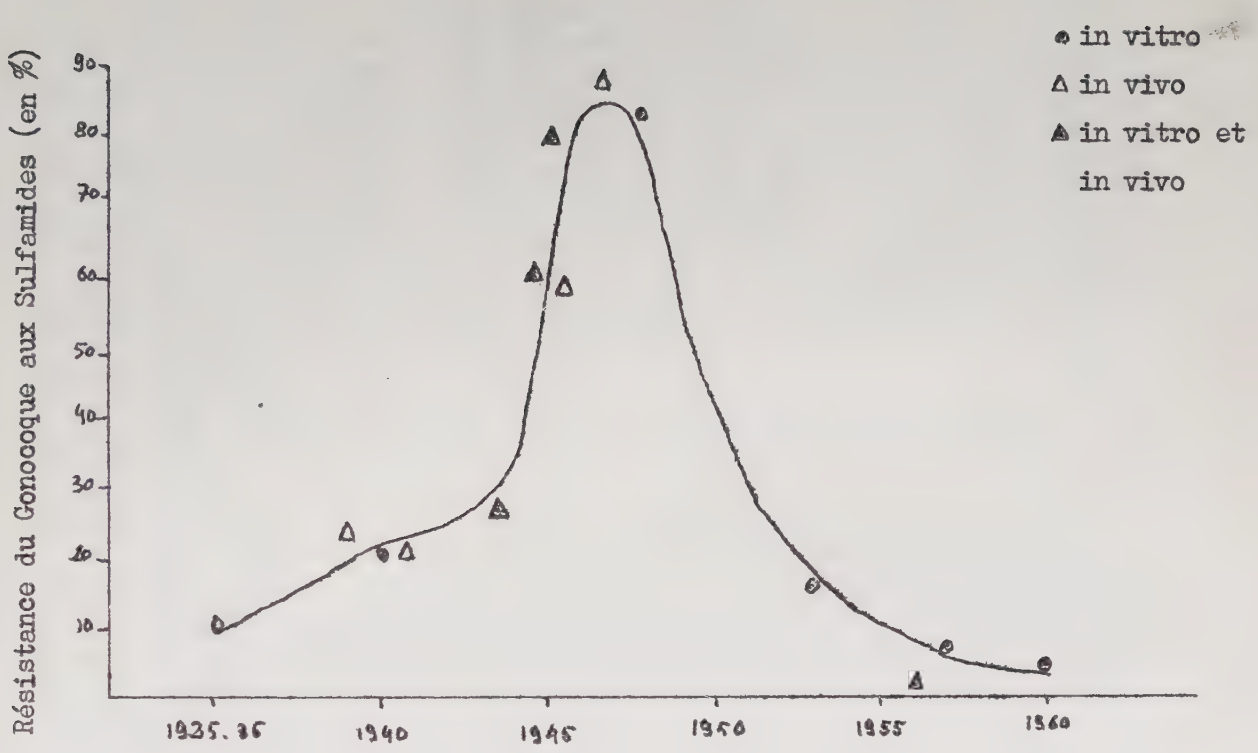
- EVOLUTION DE LA RESISTANCE DU GONOCOQUE AUX DIVERS ANTIBIOTIQUES -

Le phénomène de la résistance du gonocoque aux sulfamides s'est manifesté très tôt. - C'est à la fin de la deuxième guerre mondiale, que l'on a constaté une augmentation générale des échecs aux traitements alors pratiqués et des épreuves faites plusieurs années après l'abandon de ces dérivés au profit des antibiotiques ont montré que le germe avait presque récupéré sa sensibilité initiale.

Les échecs du traitement allaient de pair avec un accroissement in vitro de la résistance des gonocoques isolés à partir des malades chez lesquels la thérapeutique se montrait inéfficace.

En 1949, Dunlop rapporte que 86 % des malades traités au London Lock Hospital en 1947-47 étaient devenus résistants au traitement. Dès 1943, LANDFORD, SCOTT et COOK (1945) constataient que l'inhibition du germe se produisait sous l'action de 0,05 mg/ml sulfadiazine ; d'autres auteurs notent que la dose minima inhibitrice était passée de 1949 à 1954, de 0,025 mg/ml à 0,4 mg/ml de sulfadiazine.

Le graphique suivant, dressé par A. REYN (1961), montre de façon claire l'accroissement de la résistance aux sulfamides (dans l'exemple, il s'agit de sulfathiazol).



(A. REYN 1961).

Après l'abandon des sulfamides, le phénomène se manifesta de la même façon vis-à-vis des antibiotiques, la pénicilline d'abord (BERNSTEIN, 1958), employée de façon courante dans les pays anglo-saxons à raison d'une dose de 300.000 U, se révéla par la suite inefficace à des doses plus importantes encore, voire répétées.

L'emploi de la streptomycine - très utilisée en France - très efficace au début, s'avéra par la suite beaucoup moins active et cela, quelle que soit la dose employée et sa répétition.

AUTEURS	PAYS	ANNEE	Nb de SOUCHES	% RESISTANT à 0,1 µg/ml.	
LANKFORD (1945)	USA	1945	100	0	Pourcentage de souches de gonocoques résistantes à 0,06 U ou 0,1 µg/ml de pénicilline Medical Research Council (1961)
ROMANSKY et ROBIN (1947)	USA	1947	53	0	
GOCKE et Coll. (1950)	USA	"	104	0	
" "	USA	1949	52	2	
DEL LOVE et FINLAND (1955)	USA	1954	106	0	
MARCUSE et HUSSELS (1954)	Allemagne	1950-52	232	0,4	
SCHUMMER et HUBBES (1951)	"	1951	100	2	
SCHREUS et SCHUMMER (1951)	"	1944	100	1	
REYN et Coll. (1958)	Danemark	1957	90	0	
" "	"	"	103	17,5	
CURTIS et WILKINSON (1958)	Angleterre	"	302	19,5	
CRADOCK-WATSON et Coll. (1958)	"	"	200	19	
HIRSCH et FINLAND (1960)	USA	1956-59	157	0,6	
THAYER et Coll.	"	"	31	22	
" "	"	1957	46	30	
" "	"	1958	40	8	

ASPECT du PROBLEME dans les PAYS ANGLO-SAXONS -

a/ - Sensibilité à la Pénicilline -

La diminution de la sensibilité du gonocoque s'est surtout manifestée dans les pays anglo-saxons vis-à-vis de la pénicilline qui est toujours la grande thérapeutique depuis l'abandon des sulfamides. D'après un rapport du "Medical Research Council" accrédité pour examiner la résistance du gonocoque à la pénicilline, les facteurs influençant les échecs du contrôle des gonococcies dans divers pays, on doit tenir compte:

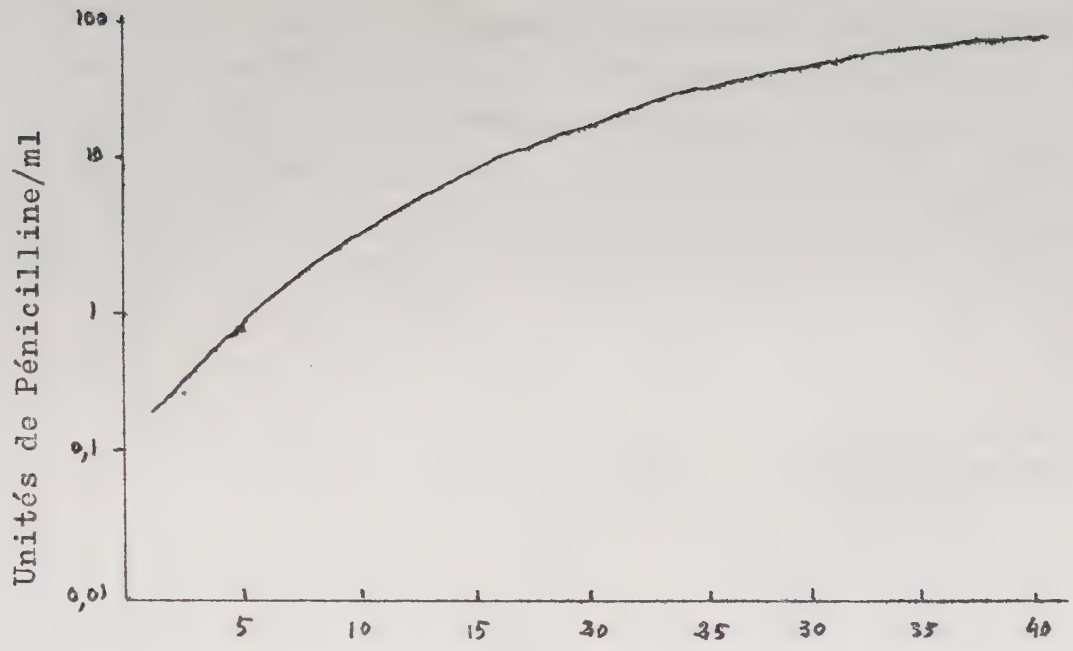
a) de l'affluence des immigrants qui contribue à l'augmentation de l'infection,

b) de l'accroissement des gonococcies chez les moins de 20 ans.

En 1955 on comptait 3,05°/° d'échecs; en 1957 (KNIGHT, 1958), ce chiffre passait à 7,3°/° et WILLCOX (1958) notait 17,9°/° . D'autre part, HILTON (1959) rapportait 39,3°/° d'échecs à la thérapeutique usuelle de 300.000 U de pénicilline Type P.A.M. Il en était de même dans d'autres pays: REYN et ses collaborateurs, au Danemark, RAKL (1959) en Allemagne, où la moyenne de la sensibilité du germe passait de 0,0058 à 0,015 unités par ml.

D'une manière générale, on retrouve au cours des années et au fur et à mesure que sont isolées les souches de gonocoques, une augmentation très importante de la résistance et l'étude de ce phénomène a fait l'objet de vérification expérimentales en étudiant la progression des doses inhibitrices minima en cultivant N. gonorrhoeae sur des milieux contenant de la pénicilline, à condition que cette concentration soit augmentée progressivement à chaque repiquage de la souche, tout en restant au-dessous de celle qui inhibe totalement la croissance du germe.

Dans ces conditions, l'expérimentation a pu vérifier au cours des repiquages une nette diminution de la sensibilité, comme en témoigne le tableau ci-après (MILLER, 1946).



Nombre de repiquages

Cependant certains auteurs (CARPENTER, 1961) restent dubitatifs quant à l'analyse des travaux expérimentaux témoignant en faveur d'une résistance à la pénicilline qu'ils jugent insuffisante à expliquer la résistance in vivo et que les données ne sont pas comparables à celles obtenues pour les bactéries résistantes aux antibiotiques.

Devant l'existence de cette résistance, on a augmenté les doses de Pénicilline. Une étude de SCHAMBERG, KALODNER et LENTZ (1958) rapporte les résultats thérapeutiques de 1.700 femmes et 2.400 hommes traités par une injection de 2.400.000 Unités de benzathine-pénicilline. Huit semaines après la mise en oeuvre du traitement, on retrouva le gonocoque chez 0,5°/° des femmes et 0,25°/° des hommes. Chez une femme, l'infection persista six mois, malgré des traitements répétés jusqu'au double de la dose initiale. Elle fut apparemment guérie par la pénicilline-procaïne en suspension huileuse à 2°/° de monostéarate d'alumine. Les auteurs en concluaient que la teneur du sang en benzathine-pénicilline ne détruisait que 95°/° des souches et suggèrent un traitement initial de 600.000 Unités de procaïne-pénicilline et de 1.200.000 Unités de benzathine-pénicilline pour éviter la dissémination des souches résistantes.

Plus récemment, H.C. GJESSING et K. ODEGAARD (1962) ont fait une étude complète de la résistance de souches provenant de 500 hommes pendant la période allant de Mai 1950 à Juin 1961 en utilisant conjointement la méthode des disques et la méthode des dilutions, sur milieu gelose-chocolat, et en exigeant les critères d'identification habituels, morphologie des colonies et du germe, réaction de l'oxydase positive, fermentation exclusive du glucose. Les antibiotiques utilisés furent la pénicilline, la streptomycine, la tétracycline, le chloramphénicol et le sulfonamide comme sulfamide.

Les résultats suivants furent observés:

	Nombre de souches sensibles	Nombre de souches résistantes
Pénicilline	372	128 (25,6°/°)
Streptomycine	396	104 (20,8°/°)
Tétracycline	486	14 (2,8°/°)
Chloramphénicol	500	0 (0 °/°)

Sur les 500 souches, 186 (37,°/°) présentaient une sensibilité diminuée, cette dernière fut étudiée vis-à-vis d'un ou de plusieurs antibiotiques et résumée ainsi:

- Simple résistance :

Pénicilline	73)	
Streptomycine	50 (	129 (25,8°/°)
Tétracycline	5)	

- Multiple résistances :

Pénicilline + Streptomycine	49)	
Pénicilline + Streptomycine + Tétracycline ..	3 (	57 (11,4°/°)
Pénicilline + Tétracycline	3)	
Streptomycine + Tétracycline	2 (	

Les malades furent traités par 600.000 Unités de procaïne-pénicilline: 37 présentèrent une rechute (7,6°/°). Chez les 363 autres dont les gonocoques étaient très sensibles à la pénicilline (résultats obtenus par la méthode des

disques), 6 rechutes, soit 1,7°/° furent observées. Par contre, chez 137 malades dont le germe était moins sensible (0,50 - 0,125 U/ml) 31 rechutes, soit 22,6°/°, furent notées, celles-ci étant proportionnelles au degré de la résistance.

Au Danemark (Reyn et coll., 1961) le problème fut étudié de la même façon et le travail entrepris en comparant la sensibilité de plusieurs centaines de souches de gonocoques récemment isolées avec celles isolées en 1944 conservées, lyophilisées. Les conclusions montrent que 25°/° des souches récentes exigeaient des doses 20 fois supérieures à celles nécessaires pour obtenir l'inhibition totale de 1944. En 1957 et en 1958, 200 souches ont été testées par la méthode des disques et la zone d'inhibition mesurée en millimètres; elles permirent de constater une corrélation significative entre la sensibilité à la pénicilline et celle à la streptomycine.

Les auteurs constatent également l'apparition de souches atypiques qui se distinguent par un pouvoir de croissance réduit, faisant fermenter que peu ou pas au glucose et présentant à l'examen sérologique des antigènes anticomplémentaires. Le milieu de culture utilisé comprenait le milieu de base:

Bouillon gelosé avec 1°/° de peptone
Na Cl ..... 0,3 °/°
Na_2 H Po_4, 12 H_2 O . 0,2 °/°

auquel étaient ajoutés 60 ml de sang de cheval défibriné pour 540 ml de milieu de base et après chauffage à 80°/° centigrades pendant 15 minutes, refroidissement à 50° centigrades, 300 ml de liquide d'ascite stérile.

Le milieu pour l'étude des fermentations comprenait en plus:

Solution de rouge de phénol 1/500 ..... 36 ml
Glucose maltose ou levulose ..... 9 gr
Solution de co-carboxylase à 1°/° ..... 10 ml ajusté à pH 7,4

Les résultats furent groupés en tableau.

COMPARAISON de la SENSIBILITE à la PENICILLINE et à la STREPTOMYCINE des SOUCHES ISOLEES en 1957 et 1958 - METHODE des DISQUES.

STREPTOMYCINE - 1957	PENICILLINE-1957		TOTAL
Diamètre des zones d'inhibition (en m/m)	24 à 34	35 à 50	
30 à 35	13 (76,5°/°)	6 (31,5°/°)	19
36 à 50	4 (33,5°/°)	13 (68,5°/°)	17
	17 (100 °/°)	19 (100 °/°)	36

STREPTOMYCINE - 1958	PENICILLINE - 1958		TOTAL
Diamètre des zones d'inhibition (en m/m)	24 à 34	35 à 50	
30 à 35	86 (90,5°/°)	60 (38,7°/°)	146
36 à 50	9 (9,5°/°)	95 (61,3°/°)	104
	95 (100 °/°)	166 (100 °/°)	250

(V.ROIRON 1961)

Dans les deux années 1957 et 1958, la diminution de la sensibilité des souches était de 39°/°; cependant le nombre des souches qui se trouvent dans la zone d'inhibition où le diamètre est égal ou supérieur à 44 mm est significativement inférieur à celui de 1957 ce qui indiquerait que la sélection ou l'induction des souches relativement moins sensibles à la pénicilline se poursuit.

Plus récemment, les mêmes auteurs (Reyn, 1961), ont étudié 583 souches isolées de Janvier 1958 à Février 1960 et ont montré que les résultats permettaient de conclure à une distribution de la sensibilité semblable à celle des

souches isolées en 1957, mais avec une proportion plus élevée des souches moins sensibles. L'étude a porté sur les quatre agents thérapeutiques suivants: Pénicilline, Streptomycine, Tétracycline et Sulfathiazol.

- Résultats obtenus avec la PENICILLINE -

Afin d'obtenir des résultats facilement comparables, les auteurs déterminent statistiquement la dose inhibitrice 50°/° par la méthode de Karber, et les histogrammes dressés à partir de chiffres obtenus montrèrent que les courbes accusaient deux sommets: l'un à 0,01 µg/ml, l'autre à 0,2, soit des variations à peu près superposables à celles obtenues avec les souches isolées en 1957, puisque, à cette date, 46°/° présentaient des concentrations inhibitrices de plus de 0,036 µg/ml contre 51°/° pour la même dose en 1960. Fait qui montrait une corrélation significative entre l'échec du traitement et la résistance *in vitro*.

- Résultats obtenus avec la STREPTOMYCINE -

La technique des dilutionq a montré que sur 265 souches à tester, 26°/° étaient devenues résistantes à cet antibiotique, et qu'il était nécessaire - pour obtenir l'inhibition totale de la croissance de 68 souches de gonocoques - d'employer des doses supérieures à 2.000 µg/ml.

- Résultats obtenus avec la TETRACYCLINE et le SULFATHIAZOL -

En ce qui concerne la tétracycline, l'expérimentation a permis de constater qu'en 1944, les souches manifestaient une sensibilité comprise entre 0,4 à 0,9 µg/ml; en 1957, une sensibilité moyenne de 0,6 µg/ml, et en 1960 une sensibilité comprise entre 0,12 et I,3 µg/ml. Par conséquent, une variation trop petite pour que l'on puisse parler d'une apparition de résistance, ce dont pouvait être responsable le faible emploi de cet antibiotique.

Pour le Sulfathiazol, qui est une thérapeutique actuellement fort peu employée, il semble que l'on soit revenu à peu près à la situation qui existait avant l'emploi de ce produit. En 1960, les limites de sensibilité des souches variaient de 0,6 µg/ml à 14 µg/ml, limites très éloignées l'une de l'autre et entre lesquelles la distribution est assez régulière avec un maximun vers 3,0 µg/ml.

Au total, les souches testées ont montré que 1°/° résistèrent à des doses de plus de 48 µg/ml; la croissance de 34°/° seulement fut inhibée par des doses inférieures à 6 µg/ml.

=:=:=:=:=:=:=:=:=:=

TABLEAU 2 - TAUX DE DISTRIBUTION DES SOUCHES D'APRES LA CIM EXPRIMEE EN UI DE PENICILLINE PAR MILLILITRE

(ROIRON et al., 1961, à de légères modifications près)

	Epoque de l'isolement des souches	Nombre de souches	> 1,0	1,0	0,5	0,25	0,125 0,100	0,06 0,05	0,03 0,025	< 0,015
Reyn, Korner & Bentzon	1944	90							49,3	50,7
Lankford	1945	100							11	89
Romansky & Robin	1947	53						9,4	54,7	35,9
Love & Finland	1947	104							1	99
	1949	52				2	2	10	37	49
Mareuse & Hussels	1950-1952	232					0,4	15,9	74,5	9,1
Schümmer & Hubber	1951	100					2	5	27	66
Schreus & Schümmer	1951	100					1	7	53	39
Love & Finland	1954	106							3	97
Reyn, Korner & Bentzon	1957	103		12	3	3	8	46	28	
Cradock-Watson et al.	1957-1958	200			2,5	8	8,5	6	23	52
Curtis & Wilkinson	1958	302			1,6	12,6	5,3	5,6	6,6	68,3
Hirsch & Finland	1958-1959	157				0,6	8,3	15,9	10,8	64,2
Roiron et al.	1958-1960	327	1	0,3	4,6	5,5	16,2	22	50,4	

TABLEAU 1 - RECAPITULATION DES METHODES

Année Auteur (s)	Pays	Méthode	Milieu
1961 Cole et al.	USA	Dilution en tubes " sur plaques	Trypticase semi-solide + gélose chocolat. L'un et l'autre milieux enrichis de supplément C.
1961 Mc Carthy et al.	"	Dilution sur plaques	Gélose chocolat
1961 Groupe de travail MRC	Grande-Bretagne	Dilution en tubes " sur plaques Techniques diverses*	Divers milieux
1961 REYN	Danemark	Diffusion Comprimés (RMC) 25 Ui Dilution sur plaques	Gélose chocolat + sang de cheval 6,7% + liquide d'ascite 10%
1961 Ringertz	Suède	Diffusion Disques de papier 20 Ui (H. Ericsson)	Gélose chocolat + sang de cheval 8,5% + sérum de cheval 7,1 %
1961 Roiron et al.	France	1) Dilution sur plaques 2) Diffusion	Gélatine au bouillon de boeuf + plasma de cheval 20%
1961 Letcher & Nicol	Grande-Bretagne	Dilution sur plaques	Gélose chocolat + liquide d'hydrocèle
1961 Thayer	USA	" "	Agar spécial Protéose + hémoglobine et suppl. C (Difco)
1961 Ziprkowski et al.	Israël	Texte en hébreu	

* Tous les chercheurs qui appliquent des méthodes de dilution (sauf Reyn et al.) expriment leurs résultats en Concentration inhibitrice minimale (CIM.

ASPECT du PROBLEME en FRANCE -

On ne peut noter de différences significatives entre la France et les autres nations en ce qui concerne la résistance aux sulfamides. Ce produit qui, avant la découverte des antibiotiques représentait le seul traitement vraiment efficace, a en effet été à peu près universellement utilisé de la même manière et, de ce fait, la résistance du gonocoque a évolué parallèlement. Elle s'est manifestée très rapidement à partir de 1946 pour diminuer progressivement vers 1954 alors que cette thérapeutique avait été abandonnée. Il semble bien qu'elle se soit considérablement réduite à l'heure actuelle où l'on se retrouve dans un état voisin de celui de 1937(voir graphique p. 24).

On ne peut préjuger de l'avenir en ce qui concerne les antibiotiques; il est imprudent, quoique souhaitable, d'espérer que le phénomène de réapparition de la sensibilité constaté avec les sulfamides puisse se produire, d'abord parce que la pénicilline et la streptomycine sont encore universellement utilisées comme traitement de la gonococcie, et qu'ensuite il semble qu'il faille une longue période pour que ce phénomène se manifeste. Cependant, il est un fait indéniable que l'élévation du pourcentage des souches résistantes à l'antibiotique très employé s'accompagne d'une baisse parallèle du pourcentage des souches résistantes au produit abandonné.

Partant de cela, et du fait de la réapparition de la sensibilité des germes aux sulfamides, l'emploi en a été fait à nouveau (conjointement avec la D.H.S.) de la façon suivante:

- 1 g. D.H.S., suivi de 1 g. quatre à six heures plus tard et 20 g. de Sulfathiazol à raison de 4 g. par jour pendant 20 jours (P.DUREL, V.ROIRON et L.DELOUCHE, 1961) avec des résultats heureux au début et une croissance ultérieure de la résistance expliquée par les hypothèses suivantes:

  - soit accroissement de la résistance à la streptomycine,
  - soit chute nouvelle de l'activité du sulfathiazol.

Quoi qu'il en soit, il est acquis que le traitement des affections microbienne par les associations d'antibiotiques freine l'apparition de souches résistantes, ce qui ne permet cependant pas de résoudre le problème puisque les souches résistantes présentent une grande possibilité à être sélectionnées tout en restant désavantagées en l'absence du facteur sélecteur, ce qui est une hy-

pothèse pour expliquer la réapparition de la sensibilité aux sulfamides.

- Pourcentage des échecs du traitement des urètrites en fonction -
de la
- période de traitement -

Thérapeutique	Période	Nb. de sujets traités	Nb. d'échecs	o/o
Didromycine 2 g.	1957	3.119	307	9,8
	1/XI/58 au 30/X/58	2.471	336	13,8
D.H.S. 2 g. + Sulfathiazol 20 g. en 5 jours	1/XI/58 au 30/X/59	1.462	120	8,2
	1/V/59 au 30/X/59	1.716	156	9,1
	1/XI/59 au 30/IV/60	1.614	155	9,6
	1/V/60 au 30/IX/60	946	122	12,9

(V.ROIRON 1961)

La vérification statistique permet d'avoir un reflet plus exact de l'évolution du problème. En faisant une épreuve de signification pour comparer les fréquences observées d'une période à l'autre inscrite dans le tableau et concernant l'augmentation apparente des résistances au traitement conjugué DHS + Sulfathiazol, on s'aperçoit qu'en pratiquant l'épreuve du X_2, qu'entre la période

- du 1/XI/58 au 30/X/58

la différence est significative à un seuil compris entre 1°/° et 1°/$_{oo}$

- du 1/V/59 au 30/IV/60

on ne peut évoquer une différence significative.

- du 1/XI/50 au 30/IX/60

la différence est significative.

Par contre, si l'on compare les résultats obtenus du 1/XI/58 au 30/IX/60, on obtient une épreuve significative entre les seuils $\alpha = 0,01$ et $0,001$.

Apparamment, l'accroissement des pourcentages semble s'établir de façon régulière, mais il est cependant nécessaire de vérifier par le calcul cet accroissement avant de porter un jugement définitif. Dans l'exemple suivant les pourcentages de 9,1°/° à 9,6°/° ne peuvent permettre de préjuger d'une diminution de la sensibilité pendant ces deux périodes.

EVOLUTION de la RESISTANCE à la STREPTOMYCINE -

A l'inverse des pays anglo-saxons qui n'ont que fort peu employé cet antibiotique et où la résistance ne s'est que discrètement manifestée, on constate en France un accroissement important de la résistance de N. gonorrhose à ce produit.

Il s'agit de plus d'une résistance vraie; c'est-à-dire que le germe est insensible même à des doses considérables. Une observation (TOMARI et coll., 1961) rapporte un échec thérapeutique dans une gonococcie avec épididymite et prostatite malgré un traitement de 2 g. par jour pendant 2 jours, suivi d'1g./jour pendant 10 jours. Une autre observation (MATRES, BONJEAN et PHILIP,1959) rapporte qu'une urétrite persista malgré un traitement de 1g./jour suivi pendant 14 jours.

In vitro, il est fréquent de rencontrer des souches dont la croissance n'est pas inhibée par des concentrations de 1.000 µg/ml, voire même la dose énorme de 2.000 µg/ml, alors que l'on considère que le seuil d'activité thérapeutique est voisin de 50 µg/ml.

Dans une récente mesure (ROIRON et coll., 1961), sur 341 souches isolées, les mesures de résistance donnèrent les chiffres suivants:

Souches sensibles	à	2,µg/ml	...	33	soit	9,7°/°
"	"	à	5	"	...	69	"	292
"	"	"	10	"	...	133	"	39
"	"	"	50	"	...	26	"	7,6
"	"	"	500	"	...	1	"	0,3
"	"	"	1.000	"	...	1	"	0,3
Souches résistantes à			1.000	"	...	78	"	22,9

D'Octobre à Juillet 1959, sur 233 testées, 20°/° étaient résistantes à une concentration supérieure à 1.000 µg/ml alors que ce chiffre passait à 28°/° des 108 souches isolées de cette date à fin Février 1960.

Il semble qu'actuellement on puisse escompter un échec thérapeutique dans le traitement de la gonococcie sur un pourcentage de 25°/°, ce qui est considérable puisque dans les dernières années on pouvait considérer que l'affection gonococcique pouvait être guérie, dans la majorité des cas, par des doses d'1 de 2 g. de Streptomycine ou de D.H.S.

=:=:=:=:=:=:=:=:=:=

- EVOLUTION de la RESISTANCE aux DIVERS ANTIBIOTIQUES -

Les recherches faites sur d'autres antibiotiques et sulfamides ont montré, dans le même travail, une corrélation entre les résultats constatés par les auteurs danois (A.Reyn 1961) et les auteurs français en ce qui concerne la sensibilité du gonocoque vis-à-vis des sulfamides, qui semble être réapparue depuis l'abandon de cet agent thérapeutique.

Sur un nombre total de 154 souches, 37 soit 24,0 °/° furent inhibées in vitro par une dose de 50 µg/ml; de Sulfathiazol.

62 soit 40,3°/° le furent par une dose de 10 µg/ml,

et

45 soit 29,2°/° le furent par une dose de 2,5 µg/ml.

Si l'on considère que les souches inhibées in vitro par 50 µg/ml et au-dessous sont sensibles au produit, sur un nombre total de 154 souches, le pourcentage de sensibilité est de 93, 5 °/° ce qui représente, par rapport au pourcentage de résistance dans les années qui suivirent la dernière guerre, une importante augmentation de l'efficacité du Sulfathiazol.

En ce qui concerne la PENICILLINE on ne peut parler de résistance vraie étant donné qu'il n'y a pas d'inéfficacité totale du produit vis-à-vis du germe - puisqu'un accroissement de la dose en aura toujours raison - De plus, il n'a pas été utilisé comme traitement de la gonococcie autant qu'il l'a été dans les pays Anglo-Saxons. Néanmoins, si l'on considère comme étant sensibles des souches dont la croissance est inhibée par 0,05 UI et au-dessous, on s'aperçoit en considérant les résultats obtenus en testant 327 souches, que 90 soit 27,6°/° exigèrent une dose supérieure (de 0, 100 à 1 UI/ml) pour obtenir le même effet.

En ce qui concerne les autres antibiotiques, on ne peut noter d'augmentation véritablement significative de la résistance. La Tétracycline, la

- DEFINITION des CRITERES d'EXPRESSION des RESULTATS -

Intérêt de la comparaison

Lorsque les premiers cas de résistance aux agents thérapeutiques se sont manifestés, les différents laboratoires qui ont isolé les souches résistantes se sont peu préoccupés de comparer leurs différents résultats sur des bases définies. Puis, au fur et à mesure de l'accroissement de ce phénomène, quelques tentatives ont été faites, qui montrèrent que la mesure de la résistance des N. gonorrhoae isolés étaient l'objet de grandes variations dont la technique d'isolement, la composition des milieux utilisés, la façon de répartir l'inoculum, la mesure même des zones d'inhibition par la méthode des disques et la qualité même de ces derniers étaient les principaux faits.

Dans un récent travail (REYN et coll., 1963), les auteurs se sont efforcés de montrer l'intérêt de critères de mesures universels et de définir des paramètres susceptibles d'être respectés par tous les laboratoires.

Une expérimentation faite dans 6 laboratoires a montré la dispersion des résultats avec les deux techniques de mesure de la résistance: disques et dilution.

Les auteurs utilisent leur milieu auquel est incorporé l'antibiotique ou sur lequel sont placés les disques imprégnés et, en l'ensemençant avec une concentration de germes définis, ils préconisent d'attribuer aux résultats lus les coefficients suivants:

- Colonies confluentes 4
- " " mais moins denses 3
- " séparées 2
- " " 1 à 50 1
- Pas de colonie 0

L'emploi de ces coefficients permet d'avoir un reflet de l'activité de l'antibiotique et la distribution de cette graduation permet de préjuger de la dose de produit puisque, à chaque chiffre, correspond une dilution de l'agent thérapeutique.

Ainsi, si l'on rencontre en égale fréquence les coefficients 1 et 3, on peut nommer le coefficient 2 points moyens et avec cette présomption il est possible d'utiliser la méthode statistique de KARBER (FINNEY, D.J., 1947) pour calculer la concentration inhibitrice moyenne (IC_{50}) exigée par la souche testée.

Ce procédé, couplé avec l'utilisation de souches de référence permet d'ajuster les techniques et de réduire la dispersion des résultats entre les différents laboratoires, de contrôler à certains intervalles une méthode courante, ou de comparer la sensibilité de souches gonococciques isolées à différentes périodes.

=:=:=:=:=:=:=:=:=:=:=:=

- HYPOTHESES sur les FACTEURS CONDITIONNANT l'APPARITION -

de la

- RESISTANCE aux AGENTS THERAPEUTIQUES et sa VARIATIONS -

L'étude des phénomènes conditionnant l'apparition de la résistance d'un germe à un produit qui en inhibe la croissance et la multiplication a suggéré à ceux qui la pratiquent de nombreuses hypothèses.

On a évoqué diverses causes. La plus ancienne et souvent mise en cause serait l'interférence de l'antibiotique avec la division cellulaire; on a attaché tout autant d'importance à un mécanisme de substitution à un métabolite essentiel, ou encore d'interférence avec certains mécanismes enzymatiques ou d'oxydation cellulaire.

L'action sélective de certaines substances relève d'un mécanisme qui n'est pas constant ni invariable pour tous les germes car on peut constater, en considérant la sensibilité de nombreux organismes, qu'ils se sont pas détruits par n'importe quelle substance. Il est fréquent de remarquer que beaucoup de produits sont définis comme actifs pour certains germes et non pour d'autres (Gram + ou - , cocci, etc...). Cette action anticellulaire sélective qui s'exerce vis-à-vis de certains germes tout en restant inactive envers certains autres, permet de comprendre l'intérêt d'une étude du spectre bactérien et l'antibiothérapie associée.

L'adaptation d'une souche résistante à un antibiotique n'entraîne pas forcément sa résistance à d'autres antibiotiques, bien qu'il existe des résistances croisées. Les gonocoques résistants à la streptomycine restent sensibles dans l'ensemble à la pénicilline administrée à des doses suffisantes.

Une étude sur 76 souches résistantes à la streptomycine (V.ROIRON et coll., 1961) a montré que 57,9°/° furent inhibées par 0,05 U de pénicilline;

29°/° par 100 U et 13,1 par 0,250 à 1 U.

Souches résistantes à 1.000 g/ml de streptomycine	Sensibilité de ces mêmes souches à la pénicilline -						
	>1 U	1 U	0,5 U	0,25 U	0,100 U	0, 05 U	0,025 U
76 souches	0	2	1	7	22	21	23

L'adaptation pourrait être le résultat d'une sélection naturelle effectuée dans une population originellement hétérogène, mais en réalité on a pu observer que l'apparition d'une résistance à un produit donné pouvait être obtenue avec des cultures dérivées d'une seule cellule.

Cette résistance acquise par un organisme originellement sensible pourrait donc être le résultat d'une modification individuelle, d'un changement de l'organisation cellulaire, bien que l'on ait évoqué l'existence de souches résistantes au sein d'une espèce normalement sensible.

HINDELWOOD, en analysant la plupart des facteurs évoqués, conclut qu'il y a modification réelle du caractère des organismes individuels qui pourrait se produire tout aussi bien lorsqué des germes sensibles croissent et se multiplient auprès des germes résistants.

La mutation et la sélection ont été proposées comme une interprétation génétique. En ce qui concerne la streptomycine, l'augmentation irrégulière de la résistance indiquerait qu'une mutation mettrait en cause n'importe lesquels des gènes, chacun ayant une potentialité différente.

Une expérimentation conduite avec la souche K 12 de E.Coli a permis de démontrer que les germes cultivés en l'absence de streptomycine pouvait donner naissance à une descendance capable de se reproduire et de se multiplier dans un milieu contenant de l'antibiotique. - Pour ce faire, un disque stérile sur lequel se développent les colonies, est déposé dans une boîte de Pétri sur un milieu ne contenant pas d'antibiotique, puis transféré dans une autre boîte contenant un milieu auquel a été ajouté une concentration déterminée de streptomycine. - Après 24 à 48 heures d'incubation, on trouve quel-

ques colonies, et celles-ci sont résistantes à l'antibiotique, tout au moins à la concentration employée.

En l'absence de l'antibiotique, les mutants normalement résistants sont camouflés par le plus grand nombre d'individus normaux, et il semble que les germes résistants, bien qu'ils présentent une facilité à être sélectionnés, se présentent en l'absence de l'agent sélecteur comme désavantagés.

Selon l'hypothèse des mutations spontanées favorisant l'apparition d'une résistance, l'antibiotique n'agirait pas comme un stimulus pour déclencher une mutation, mais en réalité il semble bien qu'il soit probable qu'il agisse comme mutagène.

De plus, et généralement lorsqu'une souche s'avère résistante, ses possibilités de croissance et de multiplication sont moindres que celles des cultures sensibles d'où elles dérivent et souvent lors des repiquages sur des milieux ne contenant pas d'antibiotique les germes présentent une diminution de la résistance et, inversement, l'accroissement de la résistance aux antibiotiques est généralement accompagnée d'une nette tendance à l'accumulation des acides nucléïques et d'un changement dans les systèmes enzymatiques et les besoins nutritionnels.

In vivo, on peut penser que le phénomène est superposable à celui qui se passe in vitro; la résistance acquise au cours du traitement présentant des caractères voisins.

Une étude faite par Mme ROIRON et coll. (1961) sur 242 malades traités par 2 g (en 2 fois) de D.H.S. a montré que 177 souches furent sensibles in vitro à 1.000 g/ml. Le tableau montre la relation entre la sensibilité in vitro et l'action du traitement.

COMPARAISON DES RESULTATS OBTENUS AU LABORATOIRE ET DES RESULTATS CLINIQUES CHEZ

242 MALADES TRAITES PAR 2g DE DIHYDROSTREPTOMYCINE, EN DEUX FOIS

Sensibilité à la Streptomycine in vitro		Résultats cliniques correspondants		
Souches sensibles : 177 (73,14 %)				
Taux	Nombre de souches sensibles	Malades guéris	Malades non revus	Echecs
2,5 mcg	21	18	3	0
5 mcg	55	48	7	0
10 mcg	89	75	14	0
50 mcg	12	12	0	0
	Total : 177	153 86 %	25 14 %	0 0 %
Souches résistantes : 65 (26,86 %)		Résultats cliniques correspondants		
1000 mcg	65	3 4,6 %	1 1,5 %	61 93,9 %

L'apparition de souches résistantes, la facilité de contagion, et, comme le rapporte un communiqué du "Medical Research Council", l'affluence des émigrants, l'augmentation des gonococcies chez les moins de vingt ans (surtout dans les pays Anglo-Saxons), joints à l'usage intensif des antibiotiques pourraient faire craindre pour l'avenir.

Heureusement la fragilité des souches résistantes et la multiplicité des antibiotiques permettent d'espérer, sinon une diminution de la morbidité, du moins un état d'équilibre qui puisse contrebalancer l'expansion de la maladie.

=:=:=:=:=:=:=:=:=:=:=

- C O N C L U S I O N -

C'est un grave problème thérapeutique que de savoir si les armes dont on dispose sont toujours valables; surtout en ce qui concerne des affections qui peuvent présenter la possibilité d'être traitées sans contrôle et en dehors de services spécialisés.

Instruits par la sulfamido-résistance, il faut veiller pour le gonocoque, éviter l'emploi habituel de la Streptomycine, sauf dans le cas particulier d'une femme présentant une gonococcie avec annexite, et surveiller l'activité des autres agents thérapeutiques. On préfèrera les produits injectables car le risque de voir les malades se traiter eux-mêmes sans diagnostic et sans possibilité de recueillir le germe qu'ils transportent, présente de graves inconvénients:

- faire apparaître des résistances qui demeureront cachées, plonger de ce fait la thérapeutique dans l'anarchie et faire remonter la morbidité gonococcique qui malgré les soins que les laboratoires spécialisés apportent à l'enrayer, reste étale.

=:=:=:=:=:=:=:=:=:=

Vu, le Président de Thèse .

M. R. FASQUELLE

Vu, le Doyen de la Faculté :

M. L. BINET

Vu et permis d'imprimer
le Recteur de l'Académie de Paris
J. ROCHE

B I B L I O G R A P H I E

1 - CARPENTER C.M.
Bull. Org. Mond. Santé (1961), 24, 321

2 - CHABBERT Y.A. et PATTE J.C.,.
Applied Microbiology (1960) 8, 193

3 - CURTIS F.R. WILKINSON A.E.,
Brit. J. Vener. Dis. (1958), 34, 70

4 - DEACON W.E.,
Bull. Org. Mond. Santé (1961), 29, 349-355

5 - FERGUSON W.M.,
Amer. J. Syph. (1945), 29, 19

6 - GJESSING H.C. et ODEGAARD.,
Acta Dermato Venereological (1962) 42, 305

7 - HILTON A.L.,
Brit. J. Ven. Dis. (1959) 35, 256

8 - KNIGHT G.,
Brit. J. Ven. Dis. (1958), 34, 223

9 - KORNER B.,
16° Congrès Nordisk Dermatologisk Foreing,
Göteborg, 1er Juin 1962

10 - LANDFORD C.E.,
Amer. Jl Syphilis (1945), 29, 56

11 - LIND Inga.,
Communication à la Nordisk Dermatologisk Forening, Göteborg Ier Juin 1962

12 - MEDICAL RESEARCH COUNCIL (1961)

13 - MILLER C.P. et BOHNHOFF M.,
J. Am. Med. Assoc. (1940) 8, 485

14 - MOFFET M., YOUNG J.L. et STUART R.D.,
Brit. Med. Jl (1948), 2, 421

15 - OVTCHINNIKOV N.M., LOURIE C.C. et BEDOVNA B.,
Techniques de laboratoire Moscou (1961), n° 12

16 - REYN A., KORNER B et WEISBENTZON M.,
Brit. J. Ven. Dis. (1958), 34, 227

17 - REYN A., KORNER B. et WEISBENTZON M.,
Brit. J. Ven. Dis. (1960), 36, 243

18 - REYN A.,
Brit. J. Ven. Dis. (1961) 37, 145

19 - REYN A. et BENTZON M. W.,
Bull. Org. Mond. Santé (1961), 24, 333

20 - REYN A., BENTZON M. W. et ERICSSON M.,
Acta pathologica et Microbiologica Scandinavia (1963), 57, 235

21 - ROIRON V.,
Presse Médicale (1954), 62, 686

22 - ROIRON V.,
Revue de Praticien (1957), 23, 2513

23 - ROIRON V., RASETTI-NICOD G., DUREL P.,
(1961), Ann. Inst. Pasteur 100, 445

24 - SVIHUS R.H., LUCEXO e.M., MIKOLAJCZYK R.J. et CARTIER E.,
J.A.M.A. (1961), vol : 77, n° 2, p. 121

25 - TOMARI V.A., GUIGIQUE G. et DUREL J.,
Bull. Soc. Méd. Milit. Franc. (1961), 55, 162

26 - WILKINSON A.E.,
Brit. J. Ven. Dis. (1962), 38, 145

AGEMP
POLYCOPIE
8, rue Dante
PARIS-Ve
Téléphone : ODÉon 58-90